

## STUDIMI ANALITIK I POLIFENOLEVE TOTALE NË VAJIN E ULLIRIT VENDAS DHE TË IMPORTIT

\*CANAJ J.<sup>1</sup>, VASO K.<sup>2</sup>, SINA F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituti Shëndetit Publik, Departamenti Shëndeti dhe Mjedisi, Tiranë, Shqipëri

<sup>2</sup>Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti Kimisë

e-mail: [jonidacanaaj@gmail.com](mailto:jonidacanaaj@gmail.com)

### Përmbledhje

Fenole hidrofiliqe janë antioksidant natyral që gjenden me shumicë në vajin e ullirit të virgjër, në të cilin, tokoferolet dhe karotenet janë gjithashtu të pranishme. Klasat kryesore të fenoleve hidrofiliqe që gjenden në vajin e virgjër të ullirit (VVO) janë alkolet fenolik, acidet fenolik, flavonoidet, ligninet, sekoiridoidet. Sekoiridoidet përfshijnë derivatet aglikon të Oleuropeinës, dimetiloleuropein dhe ligstroside, që janë të pranishme në frutin e ullirit, janë antioksidantët fenolik më me tepri të VVO-së. Qëllimi i këtij studimi është analizimi i përqendrimit të polifenoleve totale në mostra vaj ulliri me varietete të ndryshme. Në këtë studim janë analizuar 19 mostra vaj ulliri vendas dhe të importit për përcaktimin e polifenoleve totale për të parë nivelet e tyre në këto mostra. Metoda që është përdorur për përcaktimin e polifenoleve totale është ajo e Folin-Ciocalteu. Matjet janë kryer në spektrofotometër UV-VIS me gjatësi vale 725nm. Është ndërtuar kurba e kalibrimit me acid kafeik dhe në bazë të ekuacionit të fituar janë gjetur përqendrimet e mostrave të analizuara. Është vënë re se përqëndrimi i polifenoleve totale varjon nga 11.1mg/kg deri në 313.13mg/kg.

### Abstract

Hydrophilic phenols are natural antioxidants that are abundant in virgin olive oil, which, however tocopherol and carotene are also present. Classes of hydrophilic phenols found in virgin olive oil (VOO) are phenolic alcohols, phenolic acids, flavonoids, lignans, sekoiridoids. Sekoiridoids include aglycon derivatives of Oleuropeine, demethyloleuropeine and ligstrosids, which are present in olive fruit, are the most abundant phenolic antioxidants to VOO. The purpose of this study is to analyze the concentration of total poly phenols in olive oil samples with different varieties. In the study are analyzed 20 samples of domestic and imported olive oil determining the total poly phenols to see their levels in these samples. The used method for determining the total poly phenols is Folin-Ciocalteu. Measurements are performed in UV-VIS spectrophotometer in 725nm wavelength. The calibration curve was constructed by caffeic acid and based on the equation, are found concentrations of the analyzed samples. It is observed that the concentration of total poly phenols varies from 11.1mg / kg to 313.13mg / kg.

**Fjalëkyçe:** polifenole, antioksidant, vaj ulliri, acidi kafeik.

### Hyrje

Vaj ulliri i virgjër është një vaj vegjetal i cili mund të merret direkt nga fruti i ullirit duke përdorur metoda të ndryshme mekanike të nxjerrjes së tij. Përbërja kimike e vajit përbëhet nga komponentët kryesor dhe dytësor. Përbërësit kryesorë, që përfshijnë glicerinën, përfaqësojnë më shumë se 98%

të peshës totale të vajit. Komponentët dytësor që arrijnë rreth 2% të peshës totale të vajit përfshijnë më shumë se 230 komponime kimike, p.sh. alkoolet alifatike dhe triterpenik, sterole, hidrokarburet, komponimet e paqëndrueshme dhe antioksidantët. Antioksidantët kryesore të vajit të ullirit të virgjër janë karotenet dhe komponimet fenolike përfshirë fenolet lipofile dhe hidrofiliqe (Boskou,1996). Ndërsa fenolet lipofilik, ndër të cilat janë tokoferolet, mund të gjenden në vajrat e tjera bimore, disa fenole hidrofiliqe përgjithësisht nuk janë të pranishëm në vajra të tjerë përveç vajit të ullirit.

Për më tepër, fenolet hidrofiliqe e VVU formojnë një grup të metabolitëve bimore sekondare që tregojnë karakteristikat ndijore dhe ushqyese (Shahidi ,1996). "Komponimet fenolike" ose "polifenolet" është term i përdorur për të përcaktuar ato substanca të cilat kanë një unazë benzeni duke pasur një ose më shumë grupe hidroksi, përfshirë derivatet funksionale (estereve, esteret metilike, glikosidet, etj).

Komponimet fenolike janë të grupuara në kategoritë e mëposhtme:

1. fenolet, acid fenolik, acidet fenil acetik,
2. acidet cinnamik, kumarin, isokumarin dhe kromonet,
3. lignanet,
4. dhjetë grupe të flavonoideve,
5. lignin,
6. taninet,
7. benzofenonet, Xantone dhe stilbene,
8. kuinine,
9. betacianine.

Shumica e komponimeve fenolike gjenden në natyrë në formë të konjuguar. Komponimet fenolike janë të lidhura me cilësinë ndijore dhe vlerat ushqyese të ushqime bimore të freskëta dhe të përpunuara. Reaksioni i errësimit enzimatik i komponimeve fenolike, katalizuar nga fenoloksidaza, është me rëndësi të madhe në fruta dhe përpunimin e perimeve për shkak të formimit të ngjyrës dhe shijes dhe humbjes së përbërësve. Ndryshimet oksidative të polifenoleve nuk janë gjithmonë të padëshirueshme dhe mund të kontribuojnë direkt në rritjen e aromës dhe shijes së ushqimeve. Aktiviteti antioksidant i komponimeve fenolike është me interes të madh në industrinë ushqimore. Ashtu si dhe, roli i tyre mbrojtës në sëmundjet kardiovaskulare dhe kancerit, si dhe procesin e plakjes (Tsimidou, 1998).

Kompleksi kryesor fenolik në frutin e ullirit është oleuropeina, një ester heterosidik i acidit elenolik me 3,4 dihidroksifenetilalkool (hidroksitirozol). Glikoside të tjera që gjenden në fruta janë ligstroside dhe verbaskoside, një ester heterosidik i acidit kafeik me hidroksitirozol.

Flavonet (Luteolin -7-Gli-koside, apigenin-7-glikoside, Luteolin-5- glikoside) dhe flavonolet (Tsimidou, 1998). Komponentet fenolike janë të lidhura me stabilitetin e vajit por edhe me vetitë e tij biologjike. Komponentet fenolike të vajit të ulliri të virgjër i përkasin klasave të mëposhtme:

- a. tirosol, hidroksitirosol, dhe derivatet e tyre;
- b. derivatet e acidit 4- hidroksibenzoik, 4-hidroksifenilacetik, dhe acidi 4-hidroksicinnamik;
- c. lignane,
- d. flavonoide.

Polifenolet lidhen me vetitë kryesore shqisore: butësinë dhe djegësinë, të cilat janë të lidhura me llojin e vajit të ulliri. Klasifikimi i vajit të ullirit si të butë, të mesme apo robust mund të lidhen me përmbajtjen e fenoleve totale. (Boskou., Tsimidou., & Blekas., 2006)

#### **Materiali dhe metodat**

Reagentët e përdorur janë: Hexan, metanol të cilët janë të një pastërtie të lartë; Ujë i distiluar/sterilizuar; Reagenti Folin Ciocalteu i prodhuar nga Sigma Aldrich për përcaktimin e fenoleve; Acidi kafeik i prodhuar nga Cayman Chemical Company; Karbonat Natriumi anhidër pluhur me përqëndrim 35% në solucion ujor.

#### **Metoda kimike**

Mostrat e përzgjedhura për analizë janë marrë nga markete të ndryshme, të cilat janë mostra vaj ulliri të importuara, mostra nga prodhimi vendas si dhe mostra të marra direkt nga fabrika. Metoda që është përdorur për përcaktimin total të komponentëve fenolik në vajin e ullirit është ajo e Folin Ciocalteu. Peshohen 2.5g mostër vaji në peshore me ndjeshmëri të lartë. Mostra kalohet në një tub test ku i shtohet 5 ml hexan.

Në këtë përzierje shtohet 3ml metanol nga solucionet e përgatitura në raportin 60:40 metanol në ujë. Më pas përzierja përzihet në vorteks për 2 minuta, dhe më pas tubi test centrifugohet në një centrifugë tip ALT 4232 ku rrotullohet me shpejtë 3500 rpm për 10 minuta. Centrifuga ndihmon për ndarjen e fazës vajore nga ajo ujore.

Faza vajore kalohet në një tub test tjetër dhe i shtohet 3ml metanol dhe ndjek procedurën e përzierjes dhe centrifugimit si më sipër. Të dyja fazat ujore bashkohen së bashku dhe nga ekstrakti ujor merret një alikuotë 200µL dhe hidhet në një tub test tjetër, ku në të cilin shtohet 2.5ml ujë ultrapure, 0.25ml të reagentit Folin Ciocalteu. Pas 3minutash shtohet 5ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 35% në solucion ujor. Përzierjes i shtohet 5ml H<sub>2</sub>O distiluar. Pas dy orësh kryhen matjet e mostrës në spektrofotometër UV-VIS (Shimadzu) në gjatësi vale 725nm. Ndërtohet kurba e kalibrimit të acidit kafeik dhe në bazë të ekuacionit të fituar gjendet përqëndrimi i mostrave të analizuara (Gould, 2013).

**Rezultatet dhe diskutime**

Janë analizuar 19 mostra vaj ulliri për të studiuar përmbajtjen e fenoleve totale në këto mostra, nga të cilat 9 mostra janë vaj ulliri të importuara në tregun tonë, kurse pjesa tjetër vaj i prodhuar në vend (Vlora, Berati, Lushnja, Borshi, etj).

Nga rezultatet e marra vihet re një ndryshim në përmbajtje të polifenoleve në varësi të varietetit dhe në varësi të cilësisë së vajit.

Mostra që përmban më pak polifenole është mostra nr.3 në grupin e mostrave të vajit të ullirit vendas ( siç shihet nga tabela nr.3), kjo është një mostër e marë në market dhe në etiketën e saj shkruhet “Vaj ulliri”, pra është një mostër me përmbajtje vaji jo të një cilësie të lartë, pra pritej një rezultat i ulët i fenoleve totale. Në këtë rezultat mund të kenë ndikur dhe kushtet jo të përshtatshme të ruajtjes, koha e vjeljes së frutit të ullirit, procesi i prodhimit dhe koha e ruajtjes në market.

Mostra me përmbajtje më të lartë të fenoleve totale është mostra me nr.7 në grupin e mostrave të vajit të ullirit vendas, e cila është një mostër e marrë direkt nga fabrika. Përsa i përket grupit të mostrave të importit, mostra me përmbajtje më të ulët të fenoleve është ajo me nr.2, e cila është një mostër e etiketuar “vaj ulliri delikat” kurse mostra me përmbajtje më të lartë është ajo me nr.8. Nëse do të krahasoheshin të dy grupet e mostrave të mara për analizë, vihet re se mostrat që përmbajnë vaj ulliri të cilësisë së lartë (vaj i virgjër, extra i virgjër), përmbajnë fenole në sasi më të madhe se pjesa tjetër.

Duhet theksuar fakti se vajrat me origjinë vendase të cilat kanë vlera të larta të polifenoleve janë marë nga fabrika, pra në momentin e prodhimit vaji përmban sasi të lartë të polifenoleve, e cila vjen duke u ulur me vjetërimin e vajit. Vlera mesatare e përmbajtjes së polifenoleve për vajin e prodhuar në vend është 154.0307 mg acid kafeik/Kg vaj ulliri, kurse për vajin e importuar është 135.6505 mg acid kafeik/Kg vaj ulliri. Në rastin e dytë nuk dihet koha e qëndrimit në market dhe koha e prodhimit të vajit, gjë që lidhet ngusht me përmbajtjen e polifenoleve. Por për rezultatet e marra mund të thuhet që mostrat e vajit vendas janë të një cilësie më të lartë në lidhje me përmbajtjen e polifenoleve.

Nëse do të bëhej klasifikimi i vajit të ullirit në bazë të përmbajtjes së polifenoleve do të ndahej në vaj i butë (jo djegës), mesatar dhe djegës, si më posht:

Jo djegës < 220 mg acid kafeik/Kg vaj ulliri

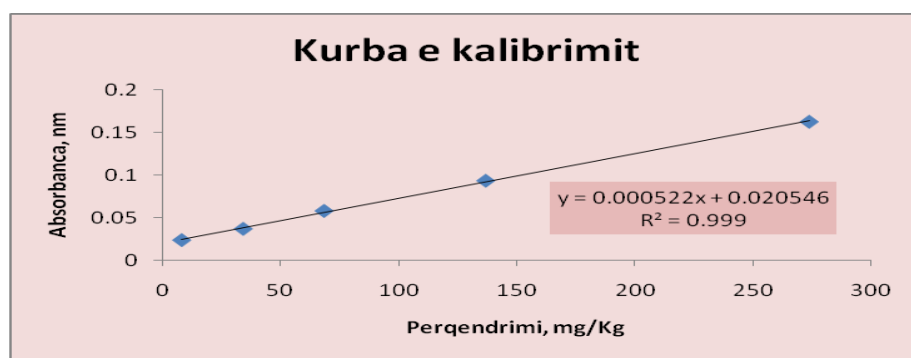
Lehtësisht djegës 220 - 340 mg acid kafeik/Kg vaj ulliri

Djegës 340 -410 mg acid kafeik/Kg vaj ulliri

Shumë djegës > 410 mg acid kafeik/Kg vaj ulliri

**Tabela 1.** Absorbanca për standarte me përqëndrime të ndryshme të acidit kafeik në gjatësinë e valës 725nm

<b>Përqëndrimet mg/Kg</b>	8.22	34.25	68.5	137	274
<b>Absorbanca, nm</b>	0.0239	0.0371	0.0581	0.0935	0.1626



**Grafiku.1** Kurba e kalibrimit të acidit kafeik në disa përqëndrime.

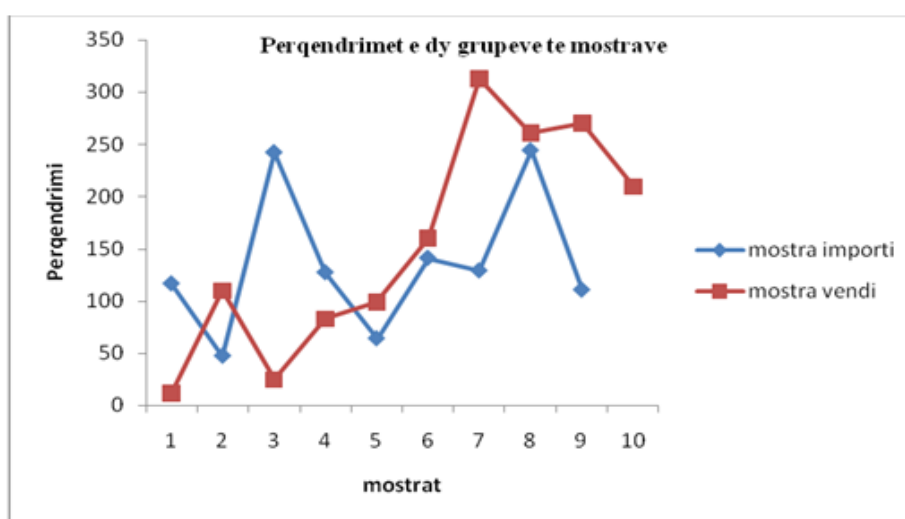
Ekuacioni i kurbës së kalibrimit të acidit kafeik për përqëndrimet e dhëna në tabelën nr 1 është :  $y=0.000522x+0.020546$  dhe koeficienti i korelacionit  $R^2=0.999$ . Përqëndrimi total i fenoleve në vajin e ullirit është shprehur në ekuivalent mg acid kafeik/Kg vaj ulliri.

**Tabela 2:** Përqëndrimi total i polifenoleve në vajin e ullirit të importuar

<b>Emërtimi I mostrave</b>	<b>Nr.1</b>	<b>Nr.2</b>	<b>Nr. 3</b>	<b>Nr. 4</b>	<b>Nr.5</b>	<b>Nr.6</b>	<b>Nr. 7</b>	<b>Nr.8</b>	<b>Nr.9</b>
<b>Përqëndrimi mg/Kg</b>	116.387	47.22989	242.0575	127.1149	63.89655	140.908	128.8391	243.9732	110.4483

Tabela 3. Përqëndrimi total i polifenoleve në vajin e ullirit vendas

Emërtimi i mostrave	Nr.1	Nr. 2	Nr.3	Nr.4	Nr.5	Nr.6	Nr.7	Nr.8	Nr.9	Nr. 10
Përqëndrimi mg/Kg	82.6705	98.57088	11.21456	109.682	24.62452	159.8736	313.1303	260.6398	270.2184	209.682



Grafiku 2. Paraqitja e përmbajtjes së polifenoleve në dy grupet e mostrave

### Rekomandime

Kryerja e analizës së fenoleve totale u jep udhëzime prodhuesve për etiketimin e vajit të tyre.

Kapaciteti antioksidant i polifenoleve luan një rol të rëndësishëm në stabilitetin e vajit të ullirit duke qënë se ekziston një lidhje midis sasisë së polifenoleve dhe rezistencës për tu oksiduar gjatë kohës.

Rekomandohet që konsumatori të bëjë kujdes në zgjedhjen e vajit të ullirit, për të marrë një vaj cilësor me përmbajtje të lartë polifenolesh.

Sasia e polifenoleve që gjenden në vaj varet nga lloji i kultivarit, periudha e mbledhjes së frutit të ullirit, karakteristikat e tokës, procesi i ekstraktimit dhe kushtet e ruajtjes.

**Literatura**

Boskou D. (1996): Olive oil chemistry and technology. AOCS press, champaign, IL(USA); 25-83

Shahidi F (1996): Natural antioxidants chemistry, health effect and applications. AOCS press, champaign, IL(USA); 97-149

Tsimidou.M(1998). Poly phenol and quality of virgin olive oil in retrospect Ital.J.Food.Sci,n.2,vol 10, 99-116

Boskou. D, Tsimidou. M, and Blekas.G (2006): Polar phenolic compounds, Olive oil chemistry and technology AOCS Press; 73-92

Gould M . (2013): University of New Hampshire, Quality of olive oils available locally chemical, Sensory and market investigations

Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M (1999): Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology